

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003 年 2 月 20 日 (20.02.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/014734 A1

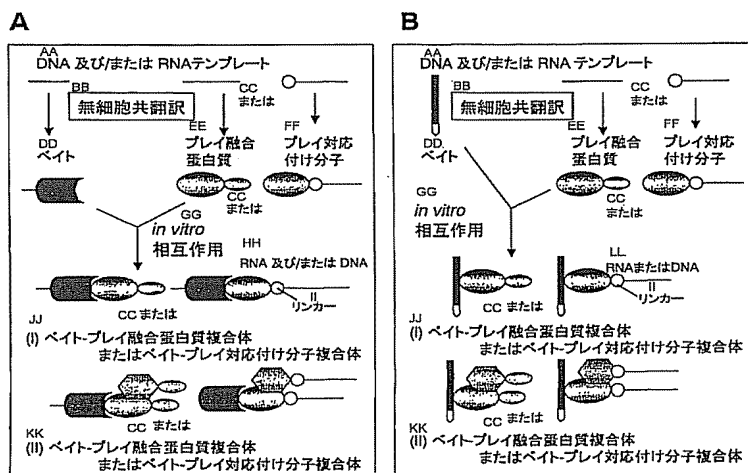
- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: G01N 33/50, 33/15, 33/566
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/08078
- (22) 国際出願日: 2002 年 8 月 7 日 (07.08.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2001-239175 2001 年 8 月 7 日 (07.08.2001) JP  
特願2002-172129 2002 年 6 月 12 日 (12.06.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法人慶應義塾 (KEIO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒108-0073 東京都港区三田二丁目15番45号 Tokyo (JP).

- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 柳川 弘志 (YANAGAWA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 宮本 悦子 (MIYAMOTO, Etsuko) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 松村 展敬 (MATSUMURA, Nobutaka) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 土居 信英 (DOI, Nobuhide) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 館山 誠司 (TATEYAMA, Seiji) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP). 石坂 正道 (ISHIZAKA, Masamichi) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP).

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF DETECTING INTERACTION BETWEEN SUBSTANCE AND PROTEIN, METHOD OF SCREENING PROTEIN INTERACTING WITH SUBSTANCE, AND METHOD OF FORMING COMPLEX OF SUBSTANCE AND PROTEIN INTERACTING WITH THE SUBSTANCE

(54) 発明の名称: 物質と蛋白質との間の相互作用の検出方法、物質と相互作用する蛋白質のスクリーニング方法、及び、物質とその物質と相互作用する蛋白質との複合体の形成方法



AA...DNA AND/OR RNA TEMPLATE  
BB...CELL-FREE COTRANSLATION  
CC...OR  
DD...BAIT  
EE...PREY FUSED PROTEIN  
FF...MOLECULE CORRESPONDING TO PREY  
GG...INTERACTION IN VITRO  
HH...RNA AND/OR DNA  
II...LINKER  
JJ...(i) BAIT/PREY FUSED PROTEIN COMPLEX OR BAIT/PREY-CORRESPONDING MOLECULE COMPLEX  
KK...(ii) BAIT/PREY FUSED PROTEIN COMPLEX OR BAIT/PREY-CORRESPONDING MOLECULE COMPLEX  
LL...RNA OR DNA

(57) Abstract: In a method of detecting an interaction between a bait and a prey involving the step of bringing the bait into contact with the prey which is a protein and detecting the complex formed by the contact, a fused protein of the prey with a protein usable as a label for detection is formed while the bait is modified for separation. Then mRNA encoding

[続葉有]



部内 Kanagawa (JP). 堀澤 健一 (HORISAWA, Kenichi) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学理工学部内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 遠山 勉, 外 (TOYAMA, Tsutomu et al.); 〒103-0004 東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 ヨコヤマビル6階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

the fused protein containing the prey is translated in a cell-free translation system in the presence of the bait to thereby couple the translation step with the interaction step. Thus, the prey is formed in the cell-free translation system and then brought into contact with the bait. The complex is detected with the use of the modification for separation and the label for detection. Thus, interactions between proteins, nucleic acid-protein, etc. are analyzed *in vitro* at a high sensitivity. In case where the bait is a protein, alternatively, mRNA encoding the fused protein containing the bait as described above is translated and mRNA encoding the protein containing the prey or the fused protein is also translated in a cell-free cotranslation system to thereby couple the translation and interaction steps. The bait and prey thus formed are allowed to interact with each other and the complex is detected with the use of the modification for separation and the label for detection, thereby analyzing interactions between proteins, nucleic acid-protein, etc. *in vitro* at a high sensitivity.

(57) 要約:

ベイトと蛋白質であるプレイトを接触させ、接触により形成された複合体を検出することを含む、ベイトとプレイトの間の相互作用の検出方法において、プレイトを、検出用標識として使用できる蛋白質との融合蛋白質とし、ベイトは分離用修飾を有するようにし、無細胞翻訳系において、前記ベイトの存在下で、前記プレイトを含む融合蛋白質をコードするmRNAの翻訳を行うことにより、翻訳と相互作用の工程をカップリングし、無細胞翻訳系にプレイトを生成させて、ベイトとプレイトを接触させ、複合体の検出は分離用修飾及び検出用標識を利用して、*in vitro* (試験管内)で、蛋白質間、核酸-蛋白質間などの相互作用の解析を高感度で行う。あるいは、ベイトが蛋白質である場合は、無細胞共翻訳系で、前記ベイトを含む融合蛋白質をコードするmRNAの翻訳、および前記プレイトを含む蛋白質あるいは融合蛋白質をコードするmRNAの翻訳により、翻訳と相互作用の工程をカップリングし、ベイトとプレイトを生成させ相互作用せしめ、複合体の検出は分離用修飾および検出用標識を利用して、*in vitro* (試験管内)で、蛋白質間、核酸-蛋白質間などの相互作用の解析を高感度で行う。